Aus der
Universitäts-Frauenklinik in München.
Vorstand Geheimrat Professor Dr. A. DÖDERLEIN.

Enthält das Corp. lut. grav. Gallensäuren?

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin, verfaßt und einer hohen medizinischen Fakultät der Bayer. Ludwig - Maximilians - Universität in München vorgelegt von

PAUL KELLNER.

München 1926.

Einführung.

Corpus luteum wurde von Malpighi und Reigner de Graf die in gewissen Zeitabständen im Ovarium sich entwickelnde Drüse genannt, weil sie sich bei manchen Arten mit ockergelber Farbe vom übrigen Gewebe abhebt. Seit ihrer Entdeckung, namentlich seit der Erkenntnis ihrer innersekretorischen Funktion richtete sich das Interesse auf sie. Noch scheint die Frage ihrer histogenetischen Abstammung nicht geklärt zu sein. Van der Stricht u. a. haben für die Säuger nun wohl einen gemischten Ursprung der Zellen des Corp. lut. aus epithelialen Granulosazellen und Zwischenzellen der Theca interna erwiesen. Der Abtransport lipoider Sekretgranula in die Blutbahn und Lymphbahnen aus den drüsenähnlich angeordneten und vaskularisierten Zellkomplexen des Corp. lut. weist deutlich gleich wie bei der interstitiellen Eierstockdrüse auf eine innersekretorische Tätigkeit hin.

Fehling hatte 1887 die Bedeutung der Eierstöcke für die Knochenerweichung publiziert und durch die therapeutische Kastration die heilende Wirkung auf die Osteomalacie schlagend bewiesen. Nach dieser ersten unbewußten Erkenntnis innerskretorischer Vorgänge dauerte es fast zwei Jahrzehnte bis die Lehre von der innersekretorischen Funktion der Blutdrüsen Anerkennung fand. Seit ihrem Durchgreifen ist sie ins Riesige gewachsen und bisher unerklärliche biologische Vorgänge wurden nun zum großen Teil verständlich. Pubertät, Menstruation, Gravidität, Laktation, Klimakterium, Basedow, Akromegalie, Morbus Addison, Diabetes usw. fanden ihre Erklärung. Weiter wurde aus dem Zusammenspiel der innersekretorischen Organe als auf einen wichtigen Regulationsmechanismus des tierischen Lebens gefolgert, bei dem einzelne Organe die Funktion anderer übernehmen und verschieden scheinende gleichwertige Wirkungen haben können.

So ist heute wohl kein Zweifel mehr an den Zusammenhängen zwischen Blutdrüsen und vegetativem Nervensystem und nach den grundlegenden Arbeiten von Halban wohl der sichere Nachweis erbracht, daß das Ovarium in der Beeinflußung des vegetativen Nervensystems etwa den gleichen Platz einnehme wie Pankreas und Epithelkörperchen. Eng verknüpft mit dem Ovarium ist das Corp. lut.

Seit L. Fränkel (1—2) 1902 nach jahrelangen Untersuchungen mit seinen Ergebnissen an die Öffentlichkeit trat, steht das Corp. lut. mehr denn je im Brennpunkt des Interesses. Vor Fränkel hatte der Breslauer Embryologe Born, der als Urheber der Idee gelten kann, auf die Ähnlichkeit des Corp. lut. mit einer Drüse hingewiesen und darauf, daß von ihr eine „innere Sekretion" ausgehe, die mit der Ansiedelung und Entwicklung des befruchteten Eies im Uterus eng zusammenhänge. Er sprach auch zuerst den Gedanken aus, daß dem gelben Körper eine allgemeine Tätigkeit zukomme außerhalb des Ovariums, die für die Frau im geschlechtsreifen Alter von weitestgehender Bedeutung sei. Die Born-Fränkel'sche Theorie (3) nimmt nun an, daß das Corp. lut. allein die Ansiedlung des befruchteten Eies auf der Uterusschleimhaut ermögliche; daß es seine Weiterentwicklung bis zu einem gewissen Zeitpunkt der Selbständigkeit sichere; und endlich daß es die periodischen Hyperämien des Uterus bezw. die Menstruation auslöse; daß durch seine Tätigkeit die Genitalorgane der Frau verhindert würden, einmal in das infantile Stadium zurückzufallen, anderseits in das senile Alter vorauszueilen. Fränkel ließ auch zuerst den Unterschied zwischen Corp. lut. verum und spurium (4) fallen, indem er annahm, daß die Tätigkeit des ersteren nur eine Mehrung und Steigerung des letzteren sei. Früher hatte schon Kreis (6) darauf hingewiesen, daß ein anatomisicher Unterschied nicht bestehe. 1920 lieferte dann Küpfer (6) für Rind und Schwein den Beweis. Er fand, daß das Corp. lut. graviditatis nur eine spezifische auf die Dauer der Tragzeit verlängerte Phase des regulären, kurzfristigen Gelbkörperturnus ist, der beim nichtträchtigen Rind 21 Tage betrage. Beim Rinde tritt dies besonders deutlich in Erscheinung, weil sich auch beim nichtträchtigen Rinde — im Gegensatz zum Menschen — jedesmal die Spuriumform zur Verumform entwickelt.

Vor über 50 Jahren wiesen Holm und Städeler im Corp. lut. der Kühe Hämatoidin nach, das identisch ist mit Bilirubin, dem normalerweise in der Galle vorkommenden Gallenfarbstoff.

Ebenso wurde vor längerer Zeit Cholesterin, der Hauptbestandteil des Gallenfettes in den Corp. lut. gefunden.

Die Tatsache, daß die Substanz der gelben Körper nach ihrer Konservierung in Spiritus bitter schmeckt, weist wiederum auf gallige Bestandteile hin.

Nimmt man nun diese Argumente znsammen mit der Born-Fränkel'schen Theorie, daß die Entfernung des Corp. lut. verum die Einnistung des befruchteten Eies unterbindet, ja sogar das Absterben der Frucht herbeiführt, so weist das eindeutig auf eine lebenswichtige Bedeutung des Corp. lut. hin und läßt fast zwangsweise die Frage aufwerfen nach dem Zusammenhang zwischen Corp. lut. grav. und den Gallenfarbstoffen und besonders den wichtigen Gallensäuren.

Das Corp. lut. grav. hat nun sein Blütenstadium vom Augenblick der Befruchtung an bis etwa zum 4. foet. Lebensmonat, in dem das Kind langsam seine Leber bildet, und gerade in diesem Monat bildet sich merkwürdigerweise das Corp. lut zurück. Aus diesem eigenartigen Zusammentreffen leitet sich die Vermutung ab, daß das Corp. lut. grav. auf irgend eine Weise dem noch leberlosen Foet die lebensnotwendigen Gallensäuren und Farbstoffe zuführt. Der Zweck dieser Arbeit soll nun dem Nachweis oder Fehlen der Gallensäuren und Farbstoffe dienen und zugleich einen Überblick über die schon früher beschriebenen Stoffe das Carotin und das Cholesterin geben.

Da Untersuchungen über die Gallensäuren und Farbstoffe im Corp. lut. bisher nicht beschrieben sind und die Methoden der einzelnen Versuche selbst erst zu finden waren, lagen die Schwierigkeiten auf der Hand, denen Herr zu werden uns vor allem durch das liebenswürdige Entgegenkommen Herrn Geheimrats Professor Dr. H. Fischer gelang, wodurch das Arbeiten im org. chem, Institut der Münchner Technischen Hochschule ermöglicht wurde. So stellen unsere Versuche wohl einen vollkommen neuen Beitrag zur Kenntnis des Corp. lut. dar.

Die aus dem Corp. lut. gewonnenen Extrakte sollen kurz gestreift werden. Es macht sich nach anfänglichen Erfolgen in der Herstellung innersekretorischer Organpräparate das Bestreben geltend, statt allgemeiner Wirkung eine spezifisch isolierte zu erreichen.

Es wurden hergestellt von:

Herrmann (7) ein Ektrakt Phosphatid, ein Cholesterinderivat wie der Name sagt, der löslich in Alkohol, Äther, Petroläther, Azeton und Benzol, dagen unlöslich in Wasser ist. Es gelang nur im Tierexperiment die Wirkung zu

---

Anm.: Auch an dieser Stelle danke ich Herrn Geheimrat Prof. Dr. H. Fischer herzlichst für seine gütige Beratung und Unterstützung.

bestätigen. Wahrscheinlich wirkt der Extrakt nicht streng ovariotrop, sondern auch mehr allgemein.

Vogt (7) ein Extrakt Luteoglandol mit herabsetzender Wirkung auf den Blutandrang zu den Genitalorganen und damit Verminderung der Blutung, Senkung des Blutdrucks und spasmolytischer Wirkung auf das ganze Gefäßsystem und die glatte Muskulatur überhaupt.

Seitz und seinen Schülern (7) zwei Extrakte mit spezifischer antagonistischer Wirkung.

1. Luteolipoid, der cholesterinfrei, löslich in Azeton und Äther, unlöslich in Alkohol ist, der bei profusen Menstruationsblutungen und krankhaften Pubertätsblutungen hemmend wirken, bei Myom — und entzündlichen Blutungen wirkungslos sein soll.

2. Lipamin. der wasserlöslich und nicht hochmolekular ist und bei Amenorrhoe blutungsauslösend sei.

Die Weiterentwicklung beider Extrakte durch Seitz und Wintz (8) scheint nun zu einem praktischen Beweis für die Möglichkeit einer „dissocierten Ovarialtherapie“ geführt zu haben. Doch ist der Weg zu einfacher Handhabung und Dosierung der Extrakte noch weit. Das Ovarium und Corp. lut. ist eben viel empfindlicher als andere endokrine Drüsen gegenüber den verschiedenen Methoden der Konservierung. Zondek und Bernhardt (9), ebenso Stickel, Köhler und Wintz weisen auf die große Bedeutung der Darstellungsweise und der Wahl des Materials in Alter, Fütterung, Generationsstadium hin, eine Warnung, die man auch nach unseren Beobachtungen nicht genug würdigen kann.

Das Carotin.

1867 wies F, Holm (10) Farbstoffkryställchen nach in den Corp. lut., die er scharf von Bilirubin (11) unterschied, aber für identisch mit Hämatoidin ansprach. Er beschreibt sie bei auffallendem Licht prachtvoll cantharidengrün mit metallischen Reflexen, bei durchfallendem Licht rot; hebt ihre flammenrote Lösung in Schwefelkohlenstoff hervor, ihre intensive Blaufärbung in konz. Schwefelsäure und den indifferenten Charakter dieses Pigments. Doch schon 1869 erklärte Thudichum (12) „The bodies described by Holm and Städeler under the name of hematoidin are not hematoidin but luteine". Letzterer Name wurde von H. Escher 1923 für das Corp. lut. fallen gelassen und dafür als Sammelname für gelbe pflanzliche und tierische Pigmente die Bezeichnung Lipochrome (Krukenburg 1882) oder Carotinoide (Tswett 1906) empfohlen, wegen ihrer Beziehungen zum Fett und Carotin. Der Name Luteine wurde bereits 1912 von Willstädter und Escher für das Eidotterpigment in Anspruch genommen. 1907 erschien von Willstätter und Mieg (13) die großen Arbeiten über Chlorophyll. Unter dessen Begleitern wurden in reinem Zustand isoliert: Carotin, ein rot-oranger, Benzin leichter löslicher Kohlenwasserstoff von der Formel C_{40}, H_{56} und Xanthophyll C_{40}, H_{56}, O_2, das von gelber Farbe, Alkohol leichter löslich und sauerstoffhaltig ist. Später beschrieben sie den Tomatenfarbstoff Lycopin (14), eine Isomere des Carotins. Unter den ähnlichen gelben tierischen Pigmenten wurde als Erstes das Lutein (15), der Farbstoff des Hühnereidotters ebenfalls von diesen beiden Forschern hergestellt, der den Alkohol löslicheren Xantophyllen am nächsten steht. In dieser Arbeit wurde zuerst angedeutet, daß der Farbstoff Carotin des Corp. lut. ein Vertreter der Benzin leichter löslichen Kohlenwasserstoffe sei.

H. Escher (16) stellte als Erster tierisches Carotin aus Corp. lut. rein dar und beschrieb es ausführlich. Er ließ in sieben größeren Schlachthöfen die Ovarien sammeln und konnte so mit enormen Zahlen arbeiten. Aus 146 Kg. Ovarien (ca. 10 000 Stück), die 10 Kiloweise verarbeitet wurden, gewann er 0,45 g Kohlenwasserstoff und wies seine Identität mit dem früher dargestellten Carotin aus Blättern und dem aus Carotten nach. Ein Farbstoff der Xantophyllgruppe wurde von ihm und später auch von H. Fischer und Röse (17) nicht gefunden.

Er zog die in Alkohol konservierten und zu Teig zerkleinerten Ovarien nach mehrfacher Alkoholbehandlung mit Petroläther aus und verarbeitete dann das Rohprodukt weiter zu reinem Farbstoff. In seiner Arbeit findet sich kein Hinweis, ob die Corp. lut. aus den Ovarien ausgeschält oder im Ganzen verarbeitet wurden.

H. Escher beschreibt ihn als ungesättigten Kohlenwasserstoff, den Ternenen nahe stehend, von der Formel C_{40}, H_{56}. Wie alle Carotinoide enthält er kein Eisen und keinen Stickstoff. Sie alle zeigen nähere Verwandtschaft zum Kautschuk und den Sterinen (Cholesterin. Phytosterin). Sie sollten daher nicht zu den Fetten. sondern zu den Harzstoffen gerechnet werden. H. Escher schreibt: „Wahrscheinlich ist Carotin wie Kautschuk ein Derivat des Isoprens (C_5, H_7). Die Harzsäuren der Koniferen liefern fast alle Cholesterinreaktionen. Daß die Molekülbruchstücke trockener Destillation von Carotin. Cholesterin, Naturkautschuk unter sich ähnlich, aber verschieden von denen des Parafins und der Stearinsäure usw. sind, läßt sich leicht durch Erhitzen kleiner Proben demonstrieren. Terpenstoffe entwickeln dabei einen typischen harzähnlichen Geruch".

Der Identitätsbeweis des Carotins aus Corp. lut. und dem aus Carotten und aus grünen Blättern soll hier gekürzt nach Escher wiedergegeben werden:

Für alle drei Carotinoide wurde gefunden:

1. Keine Schmelzpunktdifferenz.
   Im gemeinsamen Bade für Ovarien. Blätter und Carottencarotin 175; vorher von Willstätter und Mieg für Carotten und Blättercarotin 167,5—168; nachher von H. Fischer und Röse für Carotin aus Rindergallensteinen 178—180.

2. Gleiche Löslichkeit und Farbenreaktionen.
   Schwer in siedendem Äthylalkohol.
   Zunehmend leichterlöslich in Petroläther, Äther, Chloroform und Benzin mit goldgelber Farbe.
   Sehr leicht in konz. Schwefelsäure tief indigoblau.

3. Krystallisation (als Grundform der Rhomboeder).

4. zeigt die Entmischungsreaktion von Stocks (18), Kraus (19) und Sorby (20) folgenden Unterschied von Xantophyllen.

Kohlenwasserstoffe rot.	Sauerstoffhalt. gelb.
gehen bei Entmischung in die	
obere petroläth. Schicht	untere alkoh. Schicht
Formel: C_{40}, H_{56}	Formel: C_{40}, H_{56}, O_2
1. Carotin aus Karotten.	1. Xantophyll aus Blättern.
Carotin aus Blättern.	2. Lutein aus Hühnereidotter.
Carotin aus Ovarien.	
2. Lycopin aus Tomaten.	

Ebenso geben gleiche Resultate Absorptionsspektrum und Autoxydation und es bilden auch alle drei Carotinoide Di und Trijodide.

Herkunft und Bedeutung des Carotins.

Die Schulinsche Ansicht der intrazellulären Entstehung der Lipochrome, der Selbstfabrikation durch die Corp. luteum-zellen mußte nun der Speicherungsannahme weichen, seit H. Fischer und Röse (21) 1913 das Carotin aus Rinder-gallensteinen gewannen und auch andere Forscher die Ansicht der Aufnahme durch die Nahrung festigten. Die uralte Beobachtung, daß Butter und Hühnereidotter bei Grünfütterung an gelber Farbe zu und bei Heufütterung im Winter abnehmen, spricht sich auch im Lipochromgehalt der verschiedensten Organe aus. Palmer, H. v. d. Bergh fanden ihn direkt abhängig von der Nahrungsaufnahme. Carotinfrei (arm) ernährte Rinder verloren nach einiger Zeit fast alles Lipochrom, Körper und Milchfett. Die Färbung kehrte erst bei carotin- nicht aber bei xantophyllhaltiger Fütterung zurück. Umgekehrt bei stark carotinhaltiger Nahrung wurde eine allerdings begrenzte Steigerung des Lipochromgehalts erzielt. Aus Eiern lipochrom-arm gefütterter Hühner, die nahezu pigmentlosen Dotter auf-wiesen, schlüpften lipochromarme Küken aus, die sich zu sonst vollkommen normalen, lebenskräftigen Hühner entwickelten. Dasselbe scheint auch bei den Menschen der Fall zu sein. Die Gelbfärbung des kindlichen Hand- und Fußrückens nach Genuß der Papayafrucht (Schüffner, Delhi), die intensive Gelbfärbung des Fettgewebes und reichliche Pigmentablagerung in der Nebenniere der Sudanneger (22) durch das stark gefärbte Öl der Ölpalme (Elais) die stärker gelbe Färbung des Fettes der Polentaesser (Busse und Ernst) weisen in diese Richtung. Es liegt daher der Schluß nahe, daß das Lipochrom oder Carotinoid

des tierischen Organismus aus dem Blutserum stamme, das es wiederum aus der Nahrung gewinne und den Geweben zur Speicherung anbiete.

Wenn dagegen berichtet wird, daß das Schaf und Schwein lipochromarm seien, obwohl besonders das Schaf reiner Grasfresser sei, so weist diese Tatsache wohl auf eine Rassen- und Artverschiedenheit hin.

Auch die Individualität scheint eine Rolle zu spielen. Alle Forscher berichten über die grossen Unterschiede der Affinität zu den Lipochromen bei den einzelnen Individuen.

Endlich hat auch das Alter einen Einfluß auf den Lipochromgehalt und vielleicht auch die Krankheiten, die ein frühes Altern und Abmagern verursachen. Bei Neugeborenen fand L. Wacker (23) das Fett nahezu farblos, mit zunehmendem Alter, doch keineswegs ausnahmslos, stärker gefärbt, bei alten Individuen besonders stark pigmenthaltig. Anznehmen ist bei Krankheiten — chronisch zehrenden, Phthisiker, Nephritiker, Diabetiker (24) — eine im Verhältnis zur Nahrungsaufnahme und Körpergewicht größere Fettresorption als normal. Interessant ist die intensive Lipochromanhäufung in Xanthomen und Lipomen. Aus Vorstehendem ist wahrscheinlich, daß die Lipochromie des tierischen Organismus irgendwie mit der regressiven Metamorphose der patholog. Anatomie zusammenhängt.

Die Bedeutung und Funktion der Carotinoide im tierischen Organismus ist bis heute unklar, während für das pflanzliche Leben wohl sicher die Arnaud-Willstätter'sche Hypothese von der Sauerstoffatmung der sauerstoffgierigen, gelben pflanzlichen Pigmente neben der Assimilationstätigkeit des Chlorophylls gilt. Eine Wirkung bei den Carotingaben in großen Mengen, 0,1 g reines Carotin peros, blieben ohne jede Wirkung. Jedenfalls trat keine pharmakologische noch klinische Wirkung auf.

Eine spezifische Wirkung lehnt H. Escher ab, da Carotin bei Mensch, Rind und Huhn in großer Menge vorkommt, während es bei anderen Tieren (Schwein, Schaf) vollkommen fehlt.

Dagegen läßt sich für das Carotin als „indifferentes Stoffwechselprodukt" anführen: die langsame Resorption im atretischen Stadium, weiter daß kein Unterschied zwischen ipochromführenden und freien Tieren besteht, ferner, daß der

Farbstoff im ganzen Körper (Serum, Corp. lut., Körperfett, Eidotter usw.) verbreitet ist, ohne deren Zusammengehörigkeit feststellen zu können. Nach Escher ist es denkbar, daß bei genügender Anwesenheit von Carotinoiden im Serum „eine Art natürlicher Vitalfärbung ähnlich der Bilirubinfärbung bei Ikterus" die Affinität zeigenden Gewebe, sei es zufällig oder durch einen Faktor der regressiven Metamorphose veranlaßt, Lipochrome aufnehmen.

In neuester Zeit fand Kleeberg (25) bei Leichen in marantischem Zustand z. B. an Krebs, Tuberkulose Gestorbener ein Vorkommem von besonderem stark gefärbtem Fett und berührt die Möglichkeit, daß bei schweren Zehrkrankheiten die Lipochromanreicherung vielleicht ein Hilfsmittel des Organismus zur bessereu Abwicklung der Oxydationsvorgänge ist. Goebel-Stern (26) untersuchten nun diese Frage ausgehend von der Tatsache, daß das Carotin, ein regelmäßiger Begleiter des Chlorophylls, mehr als das zehnfache seines Volumens an gasförmigem Sauerstoff absorbieren kann. Sie fanden den größten Carotingehalt des Milchfettes stets vergesellschaftet mit dem größten Vitamingehalt und erklärten dies durch den Reichtum an beiden im frischen Grünfutter. Sie stellten das Carotin nach der Escher'schen Methode aus getrockneten Rüben her und da sie den petrolätherischen Auszug erst zwei Jahte später zu ihren Untersuchungen verwandten, konnte Vitaminwirkung wohl ausgeschlossen und die alleinige Carotinwirkung geprüft werden, Carotin allein, zum Teil auch gelöst in menschlichem Fett und lipämischem Serum, mit Leberbrei von Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden und mit artfremden Erythrocyten vergrößert nie die Sauerstoffzehrung weder von normalen noch von hämoglobinarmen Erythrocyten. Die Zellatmung war nie vergrößert. So scheint die Bedeutung des Carotins für den tierischen Organismus endgültig negativ ausgefallen zu sein.

Das Cholesterin.

Das Cholesterin ist der beststudierte und bekannteste Repräsentant der Sterine (27) und zwar der engeren Gruppe der Zoosterine, von denen letzteren nur noch wenige nahe Verwandte und Umwandlungsprodukte bekannt sind. Das Cholesterin ist der Cholsäure in der Galle nahe verwandt und

ist wahrscheinlich ein einwertiger, einfach ungesättigter, secundärer Alkohol mit vier hydrierten Ringen. Er enthält nur eine Doppelverbindung, die sich nach Windaus in einem Fünfring findet; ferner eine Isopropylgruppe und ebenfalls nach Windaus außer den vier hydrierten Ringen, als Seitenkette, einen Oktylrest.

Cholesterin kommt in allen Körperzellen vor, ist ein regelmäßiger Begleiter des tierischen Fettes und bildet mit seinen Säuren Ester ähnlich dem Glyzerin. Mit Saponinen geht es Verbindungen ein, die wichtig als Entgiftungsprodukte für den tierischen Organismus sind und auch nach Windaus's Untersuchungen die quantitative Cholesterinbestimmung möglich machen (Digitonincholesterid). Als Bestandteil der Zellmembran spielt es, den Phosphatiden, dem Lezithin zugerechnet eine ebenso große Rolle, indem den Lipoiden nach Overton zukommt, die in Wasser nicht oder wenig löslichen Stoffe zu lösen und für die Zellwände passierbar zu machen. Auf die Overton sche Theorie und die gegenteiligen Erfahrungen J. Traubes, der diese Löslichkeit vom Haftdruck, meßbar durch die Oberflächenspannung einer Lösung, abhängig macht, kann hier nicht näher eingegangen werden. Nach den neuesten Arbeiten von Ransom (28) hat es noch eine andere Schutzwirkung im tierischen Organismus. indem es die Saponinhämolyse einschränkt, vielleicht ganz aufhebt.

Cholesterin kommt stets mit Phosphatiden zusammen vor in einem bestimmten Verhältnis zu einander und der Körper scheint bestrebt, diesen lipocytischen Coeffizienten konstant zu erhalten. Dieses Verhältnis kommt nicht nur zum Ausdruck in der serologischen Hämolyse sondern auch in der Ionenpermeabilität der Zelle und ihrem Wassergehalt, der elektrischen Isolation der Zelle und im engeren Sinne in der Resistenz der Erythrocyten. Das verbreitete Vorkommen im Tierkörper und die besprochenen Wirkungen weisen schon auf einen allgemeinen Funktionskreis hin.

Cholesterin ist löslich in Alkohol, leichtlöslich in Äther, Chloromform, Benzol und flüchtigen und fetten Ölen; unlöslich in Wasser, verdünnten Säuren und Alkalien. Nach Gerard (29) wird es von gallensauren Alkalien in geringer Menge gelöst besonders gerne bei Gegenwart von Ölseifen.

Um die Erforschung des Cholesterins im Corp. lut. machte sich besonders Jaffe (30) verdient. Jaffe und Thannhauser

kann in vorliegender Arbeit bezüglich des Cholesterins und seiner innersekretorischen Bedeutung im wesentlichen gefolgt werden.

Jaffe wies beim Kinde im reifenden Follikel reichliche Lipoide nach, die bei der Atresie zunehmen und lange Zeit in ihm nachweisbar sind. Bei der erwachsenen Frau treten die Lipoide erst im späten Reifestadium auf, erreichen niemals so hohe Werte und verschwinden bald wieder. Beim Kind wie bei der erwachsenen Frau sind es die nämlichen Lipoide: Cholesterinnester und Cholesterinfettsäuregemische.

Im Gegensatz zum Kind finden sich bei der erwachsenen Frau die beiden Lipoide im Corp. lut. Vom Beginn seiner Entwicklung an werden mit der Zunahme der Granulosazellen die beiden Lipoide immer reichlicher und nehmen nach ihrer höchsten Entwicklung im atretischen Stadium nur sehr langsam ab, sodaß stets gleichzeitig mehrere lipoidhaltige Corp.lut. vorhanden sind. Dieser Unterschied zwischen kindlichem und fraulichem Depot an Lipoiden — einerseits Follikel anderseits Corp. lut. — spricht dafür, daß der Anwesenheit der Lipoide eine Bedeutung zukommt. Jaffe hält für wahrscheinlich, daß ihre Bedeutung wenig oder gar nicht für die Sexualorgane gilt, sondern eher mit dem allgemeinen Stoffwechsel in Verbindung steht.

Zur weiteren Klärung war die Entscheidung der Frage notwendig, ob selbständige intrazelluläre Sekretion oder nur Speicherung aus Angeboten der Blutzufuhr bestehe. Jaffe kam zu dem Resultat der Speicherung, einmal wegen des gleichen Befundes in der bindegewebigen Theca und der epithelialen Granulosa und des Verhaltens bei verschiedenen Krankheiten und ferner, weil die Befunde, die an Rinder- und Kaninchenovarien erhoben wurden, im gleichen Sinne sprachen. Jaffe konnte nämlich in seinen Versuchen feststellen, daß die Verhältnisse beim Menschen sich decken mit denen des Kalbes bzw. des Rindes. Die Localisation der Ablagerung von Cholesterin und und Derivaten und die Zeit des Auftauchens und Verschwindens derselben waren stets die gleichen wie beim Menschen. Während aber beim Menschen Cholesterinnester und Fettsäuregemische gefunden wurden, erwies sich, daß beim Rind die chemisch nahe verwandten Phosphatide und Cerebroside an ihrer Stelle sich finden; dieselben fanden sich auch im Ovarium des Kaninchens. Eine Erklärung sieht Jaffe in der verschiedenen

Nahrungsaufnahme. Die obenerwähnte Tatsache des lipocytischen Coeffizienten: Cholesterin: Lecithin (Phosphatide) läßt wohl nur eine teilweise Erklärung der Jaffe'schen Ansicht zu.

Zur Frage ob Cholesterinsynthese oder Speicherung konnte Thannhauser (31) an bebrüteten und unbebrüteten Eiern und Cholesterinbilanzversuchen zeigen, daß der Organismus Cholesterin bilden kann. Auch Bäumer (31) zeigt die Cholesterinsynthese beim Hunde. Thannhauser pflichtet der Ansicht Jaffes insoferne bei als er zugibt, daß der erwachsene Organismus im wesentlichen auf fremdes Cholesterin angewiesen sei und nur im Falle der Not auf die Fähigkeiten des wachsenden Organismus zurückgreife, ähnlich dem wiedererwachenden Blutbildungsvermögen bei großen Blutverlusten wie sie manche Organe Milz, Leber usw. haben, die nur im embryonalen Leben rote Blutkörper bilden, Im wachsenden Organismus und in der Rekonvaleszenz wird das Cholesterin aus offenen Ketten, namentlich den langgliedrigen Fettsäuren der Cerebroside, Lignocerinsäure und Cerebronsäure synthetisiert. Seine Aufspaltung kommt im intermediären Stoffwechsel nicht vor, sondern es wird als freies Cholesterin mit der Galle in den Darm und zum Teil als Koprosterin ausgeschieden. Das Koprosterin ist ein Dihydrocholesterin von der Formel $C_{27}H_{48}O$, löst sich in kaltem, obsoluten Alkohol und leicht in Äther, Chloroform und Benzol, kristallisiert in feinen Nadeln und schmilzt bei 89—90°. Es gibt die nämlichen Farbenreaktionen wie Cholesterin, aber nicht die für Cholesterin allein beweisende Reaktion mit Propionsäureanhydrid (32). Bondzynski (33) H. Fischer und andere machten sich um seine Reindarstellung besonders verdient. Nach Thannhauser ist das Koprosterin vom Cholesterin nicht nur durch Reduktion, sondern auch durch seine sterische Anordnung verschieden.

Wenn man nun mit Jaffe annimmt, daß die Lipoide im erwachsenen Organismus als Speicherungsprodukte aufzufassen sind, so ist damit eine weitgehende Parallele gezogen zu der Anschauung, daß die Lipoide der Nebennierenrinde ebenfalls Speicherungsprodukte sind. Die weiteren Untersuchungen Jaffes bestätigten seine Folgerung „wenn die Lipoide der menschlichen Nebennierenrinde die gleichen sind wie im Ovar und Corp. lut nämlich Cholesterinester und Fettsäuregemische. so dürften die Lipoide bei Rind und Kaninchen in ihrer Nebennierenrinde ebenfalls wie in ihrem Ovar und Corp. lut. Phosphatide und Cerebroside sein". In zwei Fällen gelang es

Jaffe nach ausschließlicher Cholesterinfütterung in ihren Ovarien, Corp. lut. und Nebennierenrinden statt der verdrängten Phosphatide und Cerebroside ungeheure Mengen von Cholesterinestern nachzuweisen.

Die Wirkung des Cholesterin im tierischen Organismus scheint infolge seiner chemischen Konstitution keine besondere zu sein. Thannhauser sieht sie im wesentlichen als rein physikalische an, die an den Grenzflächen der Zellen in dem Gleichgewicht Cholesterin-Cholesterinester ihren Ausdruck findet. Durch esterbildende und spaltende Fermente werden an den Zellgrenzflächen Zustandsänderungen herbeigeführt, die für die Vitalität der Zelle von ausschlaggebender Bedeutung sind. Die Leber scheint auf das Gleichgewicht Cholesterin-Cholesterinester in den Körpersäften einen entscheidenden Einfluß zu haben, obwohl auch in jeder einzelnen Zelle esterbildende und spaltende Fermente vorhanden sein dürften. Thannhauser wies bei Leberkranken mit und ohne Ikterus eine Störung im Gleichgewicht Cholesterin-Cholesterinester nach, die soweit gehen kann, daß das Colesterin den Esteranteil nicht nur stark überwiegt, sondern daß es zu einem völligen Verschwinden des Esteranteils im Blut kommt. Mit Jenke konnte er an entleberten Hunden 7—9 Stunden p. Op. ein Zurückgehen der Colesterinester nachweisen und erst nach 10 Stunden eine Stauung, die das freie und das Estercholesterin gleichmäßig betraf und bis auf das 5fache der Norm anstieg. „Das Gemeinsame das Cholesterin mit den anderen Lipoiden verbindet, ist seine Fähigkeit Ester zu bilden und zu spalten und dadurch an den Grenzflächen Bewegungserscheinungen hervorzurufen."

Zurückkommend auf die Funktion des Corp. lut. spricht Jaffe die Ansicht aus, daß ihm keine Bedeutung für die Auslösung der Menstruation zukomme, daß ihm vielmehr eine Rolle im Gesamtlipoidstoffwechsel zukomme und daß in dem Lipoidgehalt des Corp. lut. ein Hinweis zu sehen sei, wie man sich die Korrelation der Keimdrüsen mit anderen endokrinen Drüsen erklären könnte. Nach den Arbeiten Thannhausers und anderer und dem eingangs gebrachten Chemismus des Cholesterins und seiner Derivate dürfte man sich dieser Anischt vollkommen anschließen.

Gewinnung und Verwertung des Materials.

Versuche mit menschlichen Corp. lut. wären für unsere Versuche das bestgeeignete Objekt gewesen, konnten aber praktisch nicht in Frage kommen, zumal es sich um Corp. lut. Gravider handelte. Wir zogen die. Corp. lut. trächtiger Rinder in den Bereich unserer Untersuchungen. Die Ähnlichkeit der Ovarien und Corp. lut. von Menschen und Säugetieren im histologischen Aufbau und die große Ähnlichkeit der biologischen Vorgänge die von Sobotta, Kreis, Fränkel, Küpfer und Jaffe, wie in vorliegender Arbeit mehrfach angeführt wurde, und anderen Forschern übereinstimmend festgestellt wurden, läßt wohl auch eine Ähnlichkeit oder Parallele im Chemismus annehmen.

Bei den Anfangsversuchen stellte sich nun heraus, daß Gallenfarbstoffe und Gallensäuren nur in ganz geringen Mengen vorhanden sind. Zudem traten bei Entfernung von Fetten, Cholesterin, Eiweiß u.a. mehr so viele Hindernisse in den Weg, daß es ratsam schien, zuerst größere Mengen von Corp. lut. zu untersuchen. um eine Methode zur Entfernung der meisten Unreinigkeiten zu finden. Zu diesem Zweck konnten allerdings nur Corp. lut. von nichtträchtigen Rindern und Schweinen verwendet werden, denn das Material von trächtigen Kühen fiel nur langsam an, da trächtige Tiere nur aus besonderen Gründen zur Schlachtung kommen, z. B. Krankheiten. fälschliche Nichtaufnahmefähigkeit.

Die Eierstöcke trächtiger Tiere wurden seit Monaten in den Schlachthöfen von München gesammelt und in verdünntem Alkohol konserviert. Die in größerer Menge erhältlichen Corp. lut. nichtträchtiger Tiere konnten in frischem Zustand, wenige Stunden nach der Schlachtung, verarbeitet werden. Ein Nachteil durch die Konservierung dürfte kaum entstanden sein, da in Alkohol sich die Gallensäuren am besten lösen. Insgesamt wurden 380 Corp. lut. von Kühen, davon 170 von trächtigen und 60 von Schweinen untersucht. Die Corp. lut. wurden stets sorgfältig aus den Ovarien ausgeschält und allein verarbeitet. Bei der Ausschälung wurde besonders auf sorgfättiges Abpräparieren der anhaftenden Gewebe gesehen, um möglichst wenig Blut mitzuverarbeiten, da die Reduktionsstufen des Blutfarbstoffs Hämatin, Hämin und besonders Hämatoidin den

Gallenfarbstoffen nahe verwandt sind und unliebsame ähnliche Farbreaktionen geben könnten. Der Gehalt an Gallenfarbstoff und Gallensäuren im Blut des Menschen und der meisten Säuger ist an und für sich gering, während er beim gallenblasenlosen Pferd größer ist und schon makroskopisch in der Gelbfärbung des Blutserums zu erkennen ist. Jedenfalls sollte auch diese Fehlerkomponente in Wegfall kommen. Unter den 380 Rinderovarien wurde nur eines mit einem Bluterguß gefunden, das für die Untersuchung ausschied. Dagegen war es bei den Schweineovarien nicht möglich, die Blutextravaste volkommen zu entfernen weil etwa zwei Drittel davon Blutergüsse enthielten und die Ausschälung aus den traubigen Ovarien nicht ganz exakt möglich war. In der Literatur ist auch die Regelmäßigkeit von Blutergüssen in den Schweine Corp. lut. bestätigt und ebenso ihre Seltenheit in den Rinder Corp. lut.

Ein kleiner Teil von 25 Stück wurde in Formalin konserviert, erwies sich aber leider als ungeeignet zur weiteren Untersuchung. An diesem Teil konnte die Beobachtung bestätigt werden, nämlich die verschiedene Beständigkeit einzelner Pigmente in Formalin. Fleisch-Organfarbstoff verblaßt am raschesten, Lipochrome-Carotinoide weniger rasch, melanotische Pigmente sind am beständigsten. Auch fand sich eine Verschiedenheit der Alkohol- und Formalinlöslichkeit von Organ und Blutfarbstoff.

Die Corp. lut. der Rinderovarien präsentieren sich meist als große, konische, gelbrote Erhabenheiten, die das übrige Ovarialgewebe reduziert erscheinen lassen. Farbe und Konsistenz, sowie die kraterförmige Vertiefung in der Mitte des Geschwülstchens drängen den Vergleich mit einem Furunkel auf, bei dem alle klassischen Symptome vertreten sind bis auf das Hitzegefühl, das in unseren Fällen nicht mehr zu prüfen war. Vergegenwärtigt man sich die Spannung, die starke Verdrängung des übrigen Ovarialgewebes, die Dehnung und Zerrung des peritonealen Überzugs, der wie auch das übrige Peritoneum, wenn es hier histologisch auch aus anderen Zellelementen besteht, dieselben Eigenschaften besonders die hier Ins Auge gefaßte Schmerzhaftigkeit auf Dehnung und Zerrung haben dürfte, so könnte man sich neben der Alteration des ganzen Geschöpfs auf endokrinem Wege sehr gut eine solche auf mechanischem Wege vorstellen. Die vielen unklaren Adnexbeschwerden, für die meist keine Ursache zu finden ist wenn man nicht eine Infektion anzunehmen das Recht hat,

diese Monate und Jahre bestehenden Beschwerden, die irgend einmal verschwinden oder nicht mehr registriert werden, weil die Reizschwelle durch die lange Leidenszeit in die Höhe gerückt wurde, könnten damit wohl in Zusammenhang gebracht werden. Ob nun diese Annahme überhaupt auf den Menschen auszudehnen ist, da sich bei ihm nur die Spuriumform des Corp. lut. entwickelt, entzieht sich heute meiner Kenntnis und wohl auch der Kenntnis überhaupt. Ich spreche sie hier aus, weil sich mir bei der Betrachtung der vielen Corp. lut. (über 400) der Gedanke immer mehr aufdrängte, und dieses Anwachsen aus einer winzigen Stelle des Ovars vom Körper schmerzhaft empfunden werden muß, und weil die endokrine Funktion des Corp. lut. auf schwachen Füßen steht. Vielleicht mag diese Ansicht einmal eine brauchbare Erklärung geben.

Die jüngeren Corp. lut. lassen sich gut ausschälen und sehen dann meist wie Pilze mit kurzem gelbem, geripptem Stiel aus, auf dem eine wenig ausladende, dunkelgelbrote; schwammige Kappe fest aufsitzt. Beim Durchschneiden der Länge nach findet sich ein weiches, saftreiches Gewebe von verschieden gelber Farbe und die Fortsetzung der äußerlich wahrnehmbaren Fächerung bis zur Mitte durch Linien, die sichtlich regelmäßig verlaufen und sich in der Mitte zu treffen scheinen. Ältere Corp. lut. sind rot bis zinnoberrot, kleiner je nach Alter; sie sind trocken, in der Mitte oft körnig von eingelagerten Kristallen oder enthalten dort eine kleine mit klarer Flüssigkeit gefüllte Höhle. Die körnigen Stellen zeigen bei guter Vergrößerung meist Anhäufungen von kurzen Nadeln und rötlichen, quadratischen oder rhombischen Täfelchen, die mit stark gelbgefärbten Fettkugeln innig gemischt sind. NO_4 haltige Salpetersäure aufgetropft färbt die Durchschnittstellen blaugrün; meist erfolgt ein rascher Umschlag in Gelb. Die früher für Hämatoidin gehaltenen Kristalle sind das kristallisierte Carotin. Die ältesten Corp. lut. präsentieren sich meist wenig pigmentiert, nur mehr als derbe, tiefe Narben, was auf eine Gewebezerstörung bzw. Läsion hinweist, sei es nun durch Druck auf das Gewebe oder durch entzündliche Vorgänge im Corp. lut. auf der Höhe seiner Tätigkeit und würde auch für meine oben geäußerte Ansicht der mechanischen Alteration neben der endokrinen sprechen.

Die Untersuchungen wurden in zwei Teilen ausgeführt, die sich zeitlich folgten und sich so ergänzen konnten, und erstreckten sich auf eine Reihe von Versuchen, um die Ergebnise möglichst sicher und unbeeinflußt von Zufällen erhalten zu können, stets gestützt auf gleichlaufende Kontrollversuche.

In der ersten Hälfte wurde Wert darauf gelegt, Gallenfarbstoffe und Gallensäuren in getrennten Lösungsmitteln nachzuweisen. Hiebei wurden nur frisch getrocknete Corp. lut. verwendet und zwar 80 Stück von nichtträchtigen Rindern, 60 Stück von nichtträchtigen Schweinen und 40 Stück von trächtigen Rindern. Der Gang der Untersuchung blieb, nachdem er sich erstmals mit den nichtträchtigen Rindern Corp. lut. als brauchbar erwiesen hatte, immer derselbe, handelte es sich doch um möglichst völlige Entfernung von störenden Substanzen wie sie im Corp. lut. sich in großer Menge fanden und die Aufgabe daher sehr erschwerten. In der mir zugänglichen Literatur ist keine Beschreibung zu finden über einen genauen Untersuchungsgang zum Nachweis von Gallenfarbstoffen und Säuren aus Organen, in denen sie in geringen Mengen vorhanden sind oder sein könnten. Dagegen ist die Literatur überreich an Nachweis und Darstellung aus solchen Flüssigkeiten und Substanzen, in denen sie in großen Mengen vorhanden sind (36,37). Da sich für unsere Versuche die erwähnten Methoden nicht eigneten, suchten wir auf eigenen Wegen zum Ziel zu kommen und lehnten uns nur im letzten Teil unsrer Untersuchungen an schon bekannte Methoden an.

Die in frischem Zustand zu Brei zerkleinerten und getrockneten Corp. lut. werden fein verrieben und 36 Stunden mit Alkohol extrahiert. Der alkoholische stets rotbraun gefärbte Extrakt wurde bis zur Sirupkonsistenz eingedampft, mit verdünnter Natronlauge aufgenommen, um Gallensäuren und Farbstoffe in Alkalisalze zu verwandeln, welche in Petroläther unlöslich sind, und dann mit Petroläther ausgeschüttelt bis er keinen Abdampfrückstand mehr hinterließ. Hierbei gehen Fette, Kohlenwasserstoffe usw. aus dem Extrakt heraus; Stoffe, die schon früher eingehend untersucht und beschrieben worden sind. Ihre wichtigsten Vertreter, das Carotin und das Cholesterin wurden oben schon beschrieben. Die wäßrige Lösung in der sich die Gallensäuren und Gallenfarbstoffe befinden mußten, wurde hierauf mit Eisessig angesäuert, um Gallensäuren und Farbstoffe aus ihren Salzen in Freiheit zu setzen, und mit Chloroform ausgeschüttelt bis dieses ganz farblos war und das Bilirubin vollständig aus der wäßrigen Lösung herausgezogen haben mußte. Damit waren Gallenfarbstoffe und Gallensäuren getrennt in zwei verschiedenen Lösungsmitteln und konnten für sich weiter allein untersucht werden.

Die Gallenfarbstoffe kommen in der normalen Galle nur als rotgelbes Bilirubin und das grüne Biliverdin vor. Die

verhältsmäßig zahlreichen anderen kommen nur pathologischerweise in Konkrementen vor.

Die vier Pyrrolkerne zeigen schon den Zusammenhang mit den Blutfarbstoffen an und heute ist die Ansicht allgemein, daß das Bilirubin aus der Farbstoffkomponente des Hämoglobins, dem Hämatin gebildet wird. Küster zeigte zuerst die chemische Verwandschaft, indem er als Oxydationsprodukt sowohl des Hämatins wie des Bilirubins Hämatinsäureimid erhielt. Weiter konnte Küster feststellen, daß das Bilirubin stets in zwei Modifikationen, die eine schwerlösliche orangegelb, die leichterlösliche rotbraun, nebeinander vorkommt.

Bilirubin ist unlöslich in Wasser, verhält sich wie eine Säure, ist wenig löslich in Äther. Benzol. Schwefelkohlenstoff, fetten Ölen und Glyzerin; in Alkohol löst es sich etwas leichter und in heißem Chloroform am leichtesten; doch scheint seine Löslichkeit auch in Choroform oft zu wechseln.

Das Biliverdin von der nicht sicher bestimmten Formel $C_{32} H_{36} O_8 N_4$ entsteht durch Oxydation des Bilirubins; es ist unlöslich in Wasser, Äther, Chloroform; löst sich in Alkohol oder Eisessig mit grüner Farbe. Die Gmelin'sche und Hammarsten'sche Farbreaktion gibt es mit dem blauen Ring beginnend vollständig.

Die eingedampften Chloroformextrakte wurden nun bei den drei Materialien direkt auf Gallenfarbstoff untersucht mit der Gmelin'schen und Hammarsten'schen Probe wobei jedesmal eine Kontrollreaktion mit einer Spur reinem Bilirubin angestellt wurde, während die Kontrollreaktion, die mit etwa $^1/_{100}$ mgr angestellt wurde wunderschön die sämtlichen Stufen der Gmelin'schen Skala ergab, war in den drei Chloroformextrakten keine deutliche positive Reaktion feststellbar.

Nachdem der erste Versuch kein sicheres positives Ergebnis gezeitigt hatte, wurde die an sich wenig wahrscheinliche Möglichkeit erwogen, daß der Farbstoff als Bilirubinkalk im Gewebe abgelagert sein könnte. Doch war von vorneherein klar, daß bei dieser Art der Ablagerung eine innersekretorische Funktion kaum in Frage käme. Zur Sprengung dieser Verbindung wurden die schon extrahierten Corp. lut. von trächtigen Rindern und nichtträchtigen Schweinen, letztere als Kontrollmaterial mit konz. Salzsäure und Wasser zu gleichen Teilen kurz aufgekocht, heiß abgesaugt, wieder getrocknet und mit Chloroform nochmal 36 Stunden extrahiert. Auch dieser nach Aufschließung des Gewebes mit konz. Salzsäure gewonnene

Chloroformextrakt ergab keine positive Reaktion; Kontrollproben verliefen positiv. Zur Sicherheit wurde auch die zum Aufschluß verwandte Salzsäure eingedampft, da es immerhin möglich schien, daß in ihr Spuren von Gallenfarbstoff gelöst wären; doch konnte in dem mit Chloroform aufgenommenen Rückstand kein positives Ergebnis gefunden werden.

Zur Technik der endgültigen Reaktionen ist zu erwähnen, daß die jeweiligen Chloroformextrakte bis auf wenige Kubikzentimeter eingeengt wurden, mit denen dann in zwei Teilen die Gmelin'sche und Hammarsten'sche Reaktion angestellt wurden. Bei den Kontrollproben mit reinem Bilirubin konnte mit dem Hammarsten'schen Reagens noch mit einem hundertstel Milligramm sehr deutlich die wundervolle Gmelin'sche Farbenskala erhalten werden, während die Gmelin'sche Probe mit ON_2 haltiger Salpetersäure nicht so scharf gefunden wurde. Das Hammarsten'sche Reagens wurde wie im Hammarsten'schen Lehrbuch der physiologischen Chemie 1922 angegeben bereitet: ein Vol. Salpetersäure und 19 Vol. Salzsäure (beide etwa 25%) durch Stehenlassen leicht gelb geworden; davon wurden je nach Bedarf ein Teil dieser Säure zu 4—10 Teilen Alkohol gegeben, wobei es für den Nachweis kleinerer Mengen sicherer war, verdünnteres Reagens zu verwenden, um durch langsamere Oxydation die vollständige Gmelin'sche Farbenskala zu erhalten. Für Gmelins Reagens wurde konzentrierte Salpetersäure mit einem Fünftel ihres Volumens an Wasser versetzt verwendet, in welcher einige Körnchen Natriumnitrit gelöst waren.

Die Gallensäuren kommen als gallensaure Salze (Alkalien) namentlich als Natriumverbindungen vor und sind als solche eine Art Seifen. Seit alter Zeit wird diese Eigenschaft allerdings unbewußt als einfachste Reaktion im Harn auf Gallenbestandteile angewendet, indem beim Schütteln solchen Harns beständiger Schaum entsteht. Die gallensauren Salze sind ein gutes Lösungsmittel für Fette wie alle Seifen, doch unterscheiden sie sich von den konz. Seifenlösungen dadurch, daß sie keinen kolloiden Charakter haben, wie diese. Sie haben die Aufgabe, an sich schwer und unlösliche Stoffe für die Galle aufnahmefähig zu machen und durch die Darmwand in den allgemeinen Kreislauf zu bringen.

Sämtliche gallensauren Salze sind löslich in Wasser und Alkohol, unlöslich in Äther und werden von Äther in alkoholischer Lösung gefällt. Sie kommen in 2 Gruppen vor, der Glykochol und Taurocholsäuregruppe. Die Glykocholsäuren sind stick-

stoffhaltig aber schwefelfrei und spalten unter Wasseraufnahme Glykochol und eine stickstoffreie Cholalsäure ab; die Taurocholsäuren sind stickstoff- und schwefelhaltig und werden unter Wasseraufnahme in schwefelhaltiges Taurin und eine Cholalsäure gespalten. Eine dritte von Hammarsten (41) gefundene Gruppe liefert als nächste Spaltungsprodukte wie die Ätherschwefelsäuren beim Sieden mit Salzsäure Schwefelsäure und eine stickstoffreie Substanz Scymnol. Sie kommt nur bei Haifischen vor. Die Glykocholsäure kommt in der Menschen- und Rindergalle vor; bei Fleischfressern fehlt sie ganz. Die Taurocholsäure kommt in der Menschen-, Rinder-, Schaf- und Ziegengalle vor und auch bei Fleischfressern,

Nach der Abtrennung des Chloroformextraktes wurde die die Gallensäuren enthaltende Lösung eingedampft und der Rückstand mehrmals mit Äther verrieben, ohne einen nennenswerten Teil des ziemlich großen Rückstandes in Lösung bringen zu können. Darauf wurde zur Entfernung des reichlichen Natriumacetats mit 10—15 Kubikzenlimeter 10% Schwefelsäure versetzt, ziemlich abgedampft, mit Wasser wieder aufgefüllt und wieder abgedampft und dieses primitive Verfahren solange wiederholt, bis der saure Geruch nach Essigsäure verschwunden war. Hierbei mußte große Vorsicht geübt werden, um nicht zu weit einzudampfen, weil sonst der Überschuß an immer konzentrierterer Schwefelsäure unangenehme Zersetzungen hervorrufen könnte. Dann wurde mit NA OH abgestumpft bis zu eben alkalischer Reaktion auf Lakmus, dann vollständig zur Trockene verdampft mit heißem, absolutem Alkohol mehrmals extrahiert, um so die anorganischen Salze bes. Natriumsulfat mit vielen organischen Schmieren von den in Alkohol löslichen Gallensäuren zu trennen. Da beim neuerlichen Versetzen mit Äther aus der alkoholischen Lösung nichts ausfiel, wurde sie eingedampft und mit dem Rückstand die Pettenkofersche Reaktion auf Gallensäuren gemacht. Der Rücksiand wurde in wenigen Kubikzentimetern Wasser leicht gelöst und in zwei Teile geteilt, mit denen die Reaktion getrennt angestellt wurde. Zu der Lösung des Rückstandes (ein ccm Flüssigkeit) wurden in einem Porzellanschälchen ungefähr 5—7 ccm konz. Schwefelsäure gegeben, dann im Wasserbad auf 50—55° erwärmt, 1—2 Tropfen einer 10% Rohrzuckerlösung zugegeben, dann langsam unter Umrühren die Temperatur auf 60—65° gesteigert, je nach Bedarf Zuckerlösung zugetropft und etwa eine Viertelstunde gewartet, dann die Temperatur auf 70° erhöht, trat dann keine Reaktion ein, so konnten keine Gallensäuren anwesend

sein; denn Kontrollversuche mit Spuren reinem choleinsaurem Natrium ergaben schon in kurzer Zeit intensivste Rotfärbung mit Mengen bis zu einem 50. tel Milligramm herunter, welche auch spektroskopisch entsprechend verdünnt mit Eisessig einen charakteristischen Absorptionsstreifen, besser gesagt unscharf — begrenztes Absorptionsband im Grünen von ungefähr 517—544 μ ergaben. In der endgültigen Lösung des Rückstandes konnte keine sicher verwertbare, positive Reaktion erzielt werden, während nach Kontrollzusatz von einem Fünfzigstel Milligramm choleinsaurem Natrium die Rotfärbung noch gut zu erkennen war.

Nach dem Scheitern unserer ersten Untersuchungen unternahmen wir in der zweiten Hälfte der Versuche zuerst drei Kontrollversuche mit Leberbrei, dem je 20. 10 und 5 mg choleinsaures Natrium durch möglichst intensives Verreiben zugesetzt wurde. Es sollte durch das Verreiben ein Aufnehmen in die Gewebe erzeugt werden, ähnlich der Bindung in vivo, wenn auch die natürlichen Verhältnisse nicht erreichbar sind. Auch wurde die Möglichkeit erwogen, daß so geringe Mengen wie sie für uns in Frage kommen durch Absorption und auch Adhäsion an Gefäßwänden und Filtrierpapieren trotz sorgfältiger Behandlung festgehalten würden, sodaß ihr Nachweis mit den uns heute zu Gebote stehenden Methoden unmöglich wird.

Wir beschritten in der zweiten Hälfte der Versuche einen anderen Weg, der sicher zum Nachweis der Gallensäuren führt, wobei aber die Gallenfarbstoffe unberücksichtigt bleiben mußten, Nach der von Ury (43) angegebenen Methode des Gallensäurenachweises aus den Fäces fanden wir bei den mit je 10 und 5 mg versetzten Leberbreien den geringsten Ätherrückstand im Gegensatze zu unserer früheren Methode.

Bei den drei Leberkontrollproben ergab sich einwandfrei eine positive Pettenkofersche Reaktion, die auch der spektroskopischen Untersuchung stand hielt.

Nach dem guten Ergebnis der Leberkontrollproben den auch unsere letzten, in Alkohol kons. Corp. lut. von trächtigun Rindern 169 St. (die fast 5 mal größere Menge, als zu den ersten Versuchen verwendet wurden) nach der folgenden Ury'schen Methode untersucht.

Der Brei der Leberproben wie der Corp. lut. wurde getrocknet, im Exsiccator völlig vom Wasser befreit und mit Alkohol 46 Stunden extrahiert; der Alkohol samt dem zum

Sirup eingedampften zur Konserviernng verwendeten auf einen kleinen Rest eingeengt, mit Salzsäure angesäuert und mit Barytwasser stark alkalisch gemacht, dann Kohlensäure unter Erhitzen bis zum Kochen eingeleitet zur vollkommenen Sättigung, heiß filtriert und der Rückstand mehrmals mit Wasser ausgekocht, darauf die Filtrate gemeinsam eingedampft. Um nun die Taurochol und Glykocholsäuregruppe zu spalten wurde der Rückstand mit 25 ccm 3% Natronlauge 3 Stunden gekocht und durch regelmäßiges Zutropfen von heißem Wasser die Konzentration gleich erhalten. Zuletzt wurde mit Schwefelsäure angesäuert und mit Äther 8 mal ausgeschüttelt, da die einfachen Gallensäuren immerhin auch in Wasser löslich sind. Mit dem eingedampften Ätherrückstand wurde die Pettenkoffer'sche Reaktion wie oben angestellt.

Bei den 169 Corp. lut. trächtiger Rinder ergab sich nun folgender Befund. Die unvermeidbaren Verunreinigungen wurden durch die konz. Schwefelsäure stark braun gefärbt, so daß eine Beurteilung der Farbenreaktion auf den ersten Blick nicht möglich war. Es fand eine deutliche Farbenänderung zum Rot hin statt, die besonders am Rand der Lösung und an der Schalenwand zu sehen war und deren Grundton als Purpurrot erkannt werden konnte. Ebenso erschien die Lösung in großer Verdünnung mit Eisessig in der Durchsicht durch ein etwa 10 cm langes spektroskopisches Rohr einwandfrei schön rot; auch konnte im Spektrographen, der Verunreinigungen wegen nur undeutlich, ein schattenhaftes, verwaschenes Absorptionsband bei ungefähr 530 μ wahrgenommen werden. Nach Urys Methode des Nachweises von Gallensäuren in den Fäces zeigt die Pettenkofersche Reaktionslösung in Eisessig im Spektroskop einen breiten, unscharf begrenzten Absorptionsstreifen im Grünen, den wir bei unseren Kontrollversuchen mit Leberbrei auch deutlicher erhielten, von etwa 514—544 μ. Die Lage des Streifens stimmte also mit dem Uryschen überein. Wäre die Entfernung der Verunreinigungen im Ätherrückstand vollständig gelungen, so hätte die kolorimetrische wie spektroskopische Untersuchung deutliche Ergebnisse gefördert. Der Nachweis von Gallensäuren in Corp. lut. trächtiger Rinder ist damit wohl sichergestellt. Auch wird es möglich sein, eine Methode auszuarbeiten, um eine reine Endsubstanz zu bekommen, und so auch qualitativ und quantitativ die einzelnen Gallensäuren bestimmen zu können; doch muß man die Ausarbeitung einer solchen Methode der Chemie überlassen, da diese Versuche große Erfahrung und viel Zeit erfordern. Die Versuche

zum Nachweis solch geringer Mengen Gallenfarbstoffe und Säuren in nicht alltäglichen Organen scheinen bisher so selten ausgeführt zu sein, daß in der uns zugänglichen Literatur darüber nichts zu finden war; wobei ergänzt werden darf, daß diese Versuche viel schwerere Anforderungen stellen als der Nachweis in den mit Gallensäuren gesegneten Organen, Flüssigkeiten und Konkrementen.

Was die Menge der Gallensäuren betrifft, so gelang es einwandfrei in den 5 mg Leberrückstand kolorimetrisch und spektroskopisch diese nachzuweisen. Überträgt man diese Zahl von 5 mg auf 170 Corp. lut. grav., in denen man sie nachweisen könnte, so ergibt sich für 1 Corp. lut. 0,005 : 170 = 0,00003 eine homöopatische Dosis, die überdies nochmals verdünnt durch 4—5 Liter mütterliches Blut für den Foetus kaum irgend eine Wirkung haben dürfte, wollte man nicht katalysatorische Eigenschaften den Gallensäuren zuschreiben. Wahrscheinlicher dünkt uns die Möglichkeit, daß das Corp. lut. grav. die Gallensäuren nicht direkt bildet, sondern Zwischen- oder Vorstufen derselben, aus denen der kindliche Organismus entweder die Gallensäuren herausziehen oder daraus aufbauen kann. Es ist dabei an die nahe chemische Verwandtschaft von Cholesterin und Gallensäuren zu denken und an die namentlich von Thannhauser (31) in den letzten Jahren vertretene Ansicht, daß die Gallensäuren Abbauprodukte des Cholesterins, zwar nicht direkt aber doch des aus ihm hervorgegangenen Koprosterins (44) sind.

Die Vermutung naher chemischer und genetischer Beziehungen (45) unter beiden ist schon ziemlich alt. Der sichere Beweis aber glückte Windaus und Neukirchen (46) erst 1919 durch Abspalten der Isopropylgruppe aus dem Cholesterin ohne das übrige Kohlenstoffgerüst zu verletzen. Windaus ging von der Beobachtung aus, daß weder die Cholsäure noch ihr hydroxylfreies Reduktionsprodukt die Cholansäure bei der Oxydation jene flüchtigen Oxydationsprodukte, Aceton und Methyliso-hexylketon liefern wie das Cholesterin (47). Er ging vom Cholestan aus, in dem die leichtangreifbaren Stellen — die Hydroxylgruppe und die Doppelbindung — entfernt sind und stellte durch energische Oxydation mit Chromsäureanhydrid die Cholansäure her.

$(CH_3)_2 \cdot CH \cdot CH_2 \cdot C_{23}H_{39} + 4\,O = (CH_3)_2 \cdot CO + (HOOC) \cdot C_{23}H_{39} + H_2O$.

Später unterwarf Windaus das Pseudocholestan, ein Isomeres des Cholestans, aus dem sich interessanterweise das bakterielle Reduktionsprodukt des Cholesterins das Koprosterin ableitet, ebenso der Oxydation und erhielt ein Isomeres der aus Cholestan hergestellten Monokarbonsäure (Cholansäure und Cholankarbonsäure); diese Säure ist identisch mit der von Wieland und Weil (48) durch Ersatz der drei Hydroxylgruppen durch Wasserstoff in der Cholsäure dargestellten. Die Cholsäure, die Desoxycholsäure und die Litocholsäure, die Träger der besonderen Eigenschaften der natürlichen Gallensäuren die „die spezifischen Gallensäuren" sind nach Wieland (49) Hydroxylderivate der gesättigten Cholansäure $C_{23}H_{39}CO_2H$.

Darauf ist die enge Verwandtschaft zwischen Cholesterin und Gallensäuren zu verstehen, erinnert man sich, daß das Cholesterin sich aus Cerobrosiden und den langgliedrigen Fettsäuren aufbaut, so ist es sehr wahrscheinlich, daß der tierische Organismus, ein unvergleichlich besserer Chemiker als der menschliche Verstand, die schwierigen Kunststücke des Auf- und Abbaues dieser Körper mit Leichtigkeit durchführt. So ist der Hinweis Thannhausers interessant, daß die Gallensäuren kein indermediäres Stoffwechselprodukt des Cholesterins sind, das stetig gebildet wird, sondern je nach Bedarf auf dem Umweg über das Koprosterin entstehen. Leider ist uns der nähere Einblick in dieses Schaffen des Körpers noch nicht erschlossen und oft mag uns sogar noch das Verständnis für die einzelnen Vorgänge fehlen.

Zusammenfassend darf der Nachweis der Gallensäuren im Corp. lut. grav. als sichergestellt angesehen werden, nur die Methode des qualitativen und quantitativen Nachweises ist noch zu eruieren. Ihre Wirkung auf den kindlichen Organismus jedoch ist bei den bisher gefundenen Mengen ungeklärt.

Zum Schlusse danke ich Herrn Geheimrat Professor Dr. A. Döderlein für die Übernahme des Referates, ferner Herrn Professor Dr. E. Zweifel für die Überlassung der Arbeit und deren gütige Förderung. Herrn Geheimrat Professor Dr. H. Fischer danke ich für die Erlaubnis im organ. chem. Laboratorium der Münchner Technischen Hochschule arbeiten zu dürfen und für die gütige Beratung und Unterstützung bei der Arbeit. Herrn cand. chem. Zaucker danke ich für seine freundliche Mithilfe.

Literatur-Verzeichnis.

1. L. Fränkel: Verhandl. d. deutsch, Ges. f. Gyn. 9. Gießen 1901.
   Verhandl. d. med. Sekt. d. schles. Ges. f. vaterl. Kultur 1901.
   Arch. f. Gyn. Bd. 68. 1903.
2. Fränkel u. Cohn: Anat. Anz. Bd. 20. 1901.
3. Aschner: Blutdrüsenerkrankungen des Weibes.
4. L. Fränkel: Arch. f. Gyn. Bd. 68.
5. Kreis: ebenda Bd. 58.
6. Küpfer: Denkschr. d. schweiz. naturf. Ges. 1920.
   Vierteljahrschr. d. naturf. Ges. Zürich. Bd. 65.
7. Jaffe: Zentralbl. f. Gyn. 1924. Nr. 21.
8. Wintz: Deutsch. med. Wochenschr. 1924. Nr. 3.
9. Zondeck u. Bernhardt: Klin. Wochenschr. Jahrg. 4. Nr. 42.
10. Holm: Journ. f. prakt. Chem. Bd. 100.
11. G. Piccolo u. Ad. Lieben: Giornale di szienze naturali ed. economiche. Palermo Bd. 2.
12. Thudichum: Proc. Roy. Soc. Bd. 17.
13. Willstätter u. Mieg: Ann. d. Chem. Bd. 355.
14. Willstätter und H. Escher: H. S. Ztschr. f. phys. Chem. Bd. 64.
    H. Escher: Zur Kenntnis des Carotins u. Lycopins. Prom. Arb. E. T. Hochschule Zürich 1909.
15. Willstätter u. H. Escher: H. S. Ztschr. f. phys. Chem. Bd. 76.
16. H. Escher: ebenda Bd. 83.
17. Fischer u. Röse: ebenda Bd. 88.
18. Stoks: Journ. Chem. Soc. Bd. 17.
19. Kraus: Stuttgart bei Schweizerbart 1872.
20. Sorby: Proc. Roy. Soc. Bd. 21.
21. Arch. f. Gyn. Bd. 119. Anm. 2 u. 3.
22. M. Löhlein: Deutsche med. Wochenschr. 1911. Nr. 37.
23. L. Wacker: H. S. Zeitschr. f. phys. Chem, Bd. 80.
24. v. Norden: Die Zuckerkrankheit 1917.
25. Kleeberg: Virchows Arch. f. path. Anat. u. Phys. Bd 244.
26. Göbel u. Stern: Klin. Wochenschr. Jahrg. 4. Nr. 51.
27. Hammarsten: Lehrbuch d. Physiologie 1925.
28. Ransom: Deutsch. med. Wochenschr. 1901.
29. Gerad: Compt. rend. soc. biol. Bd. 58.

30. Jaffe: Zentralbl. f. Gyn. 1924. Nr. 21.
31. Thannhauser: Med. klin. 1925 Nr. 49.
32. Salkowski: Pflügers Arch. Bd. 6.
33. Bondzynski u. Humnicki: H. S. Ztschr. f. phys. Chem. Bd. 22.
34. Jaffe: Literaturbespr. in d. Zeitschr. f. d. ges. Anat. 2. (Ztschr. f. Konstitutionslehre) 1924.
35. Sobotta: Anat. Anz. 1895.
36. S. Bondi u. E. Müller: H. S. Ztschr. f. phys. Chem. Bd. 47.
Severin Jolin: ebenda Bd. 12 u. 13.
E. Meyer: Dtsch. Archiv f. klin. Med. Bd. 147. H. 5/6.
Eppinger: Arch. f. exp. Pharm. u. Path. Bd. 97. H. 1.
Rosenthal-Falkenhausen: ebenda Bd. 98. H. 5/6.
37. Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. 1922.
Chem. Method. Abt. 1. Teil 6, H. 1.
38. Herrmann u. Kornfeld: Zentralbl. f. Gyn. 1925. Nr. 40.
Vogl u. Zins: Med. Klin. Jahrg. 18. Nr. 21.
39. H. Fischer: Ztschr. f. Biol. Bd. 65.
H. Fischer: Ergebn. d. Phys. Bd. 15.
40. W. Kuster: H. S. Ztschr. f. phys. Chem. Bd. 99.
41. Hammarsten: ebenda Bd. 24.
42. Koschlakoff u. Bogomoloff: Fresenius Ztschr. f. analyt. Chemie, Bd. 7. Jahrg. 18. Nr. 21
43. Ury u. Hoppe Seyler: Hoppe-Seyler-Thierfelders Hdb. d. phys. u. path. chem. Analyse 8. Auflage 1909.
44. Abderhalden: Biochem. Handlexikon 3.
45. Windaus: Arch. d. Pharm. Bd. 246.
46. Windaus u. K. Neukirchen: Ber. d. chem. Ges. Bd. 52.
47. Windaus: H. S. Ztschr. f. phys. Chem. Bd. 100.
48. Wieland u. Weil: ebenda Bd. 80.
49. Wieland: Nachr. d. Kgl. Ges. d. Wiss. zu Göttingen. Math. naturwiss. Klin. 1919.

Lebenslauf.

Am 3. November 1899 zu München geboren, besuchte ich vier Jahre die Volksschule zu München, kam dann an das Wittelsbacher- und Ludwigsgymnasium zu München, tat vom 2. Juni 1917 bis Kriegsende Heeresdienst — vom Februar 1918 bis Kriegsende Frontdienst — und wurde, unterdessen mit dem E. K. ausgezeichnet, bei der Demobilmachung entlassen. Während eines Kriegssonderkurses trat ich in das Freikorps Epp ein, erhielt im Juli 1919 mein Abitur, wurde zu Beginn des Wintersemesters 1920 an der medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximiliansuniversität zu München immatrikuliert, bestand hier die ärztliche Vorprüfung und 1924 das medizinische Staatsexamen. Am 14. Januar 1926 erhielt ich meine Approbation.